

新疆汉族、锡伯族原发性高血压与 CBS G919A 多态性的相关性^{*}

赵磊¹, 张蕾², 芮东升^{3△}

石河子大学医学院¹生理教研室,³统计教研室(新疆石河子 832008);²石河子大学医学院第一附属医院检验科(新疆石河子 832000)

【摘要】 目的 探讨胱硫醚 β 合成酶(CBS) G919A 基因多态性与新疆汉族、锡伯族原发性高血压(EH)的关系。**方法** 选择汉族 200 例 EH 患者(汉族 EH 组)和 200 例血压正常者(汉族 NT 组),锡伯族 200 例 EH 患者(锡伯族 EH 组)和 200 例血压正常者(锡伯族 NT 组)作为研究对象,运用全自动生化分析仪检测 4 组研究对象血浆相关生化指标;采用扩增阻碍突变系统(ARMS)法检测研究对象 CBS G919A 多态性,分析 CBS G919A 多态性与 EH 的相关性。**结果** 新疆汉族 EH 组和 NT 组中基因型、基因频率分布差异无统计学意义($P > 0.05$);新疆锡伯族 EH 组 A 等位基因明显高于 NT 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。汉族 EH 组 BMI、SBP、DBP、TG、TC、HDL-C 高于 NT 组($P < 0.05$);锡伯族 EH 组 BMI、SBP、DBP、TG、TC、HDL-C、LDL-C 均高于 NT 组($P < 0.05$)。**结论** CBS G919A 基因多态性与新疆汉族 EH 的发生可能无相关性,与锡伯族 EH 的发生存在相关性。

【关键词】 多态现象; 遗传; CBS G919A; 原发性高血压

DOI:10.13820/j.cnki.gdyx.20160131.004

原发性高血压(EH)是一种临床上常见的以体循环、动脉血压升高为主要特征的疾病^[1],高血压人群呈逐年上升趋势,高血压导致动脉粥样硬化等多种疾病的发生和发展^[2],我国 EH 患者约占成人高血压病患者人群的 75%^[3]。文献报道胱硫醚 β 合成酶(CBS)能够引起高血压^[4]。锡伯族是新疆主要的少数民族,目前锡伯族高血压的发病机制少见报道,本研究旨在探讨 CBS 基因多态性与新疆汉族、锡伯族 EH 的相关性,为阐明新疆汉族、锡伯族 EH 遗传机制提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 5 月至 2014 年 5 月在新疆伊犁地区无血缘关系且在本地居住 5 年以上的汉族及锡伯族居民各 400 例。汉族 EH 组 200 例,男 96 例,女 104 例,年龄(45.72 ± 10.53)岁。汉族 NT 组 200 例,男 103 例,女 97 例,年龄(45.21 ± 9.18)岁。锡伯族 EH 组 200 例,男 99 例,女 101 例,年龄(44.62 ± 9.67)岁。锡伯族 NT 组 200 例,男 105 例,女 95 例,年龄(43.87 ± 9.81)岁。EH 组入选标准符合 2010 年《中国高血压防治指南》的标准,入选人群均排除继发性高血压、心脏病、糖尿病等患者;NT 组入选标准:收缩压 < 140 mmHg 和舒张压(DBP) < 90 mmHg,无服用降压药物,无高血压家族史,排除肝肾、甲状腺、糖尿病等病史。不同民族受试对象间年龄及性别差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 血压测量 研究对象均由研究人员连续 3 次测

量右侧肱动脉血压,每次间隔大于 2 s,取平均值。

1.3 体质指数(BMI)计算 研究对象均测量身高、体质量, $BMI = \text{体质量} / \text{身高}^2$ (kg / m^2)。

1.4 标本采集 研究对象空腹 12 ~ 14 h 抽取外周肘静脉全血 3 mL 于肝素钠抗凝管中,2 500 r/min 离心立即分离血清,用于生化指标检测。抽取外周静脉全血 2 mL,置于 EDTA 抗凝管中, -80°C 保存用于 DNA 提取。

1.5 生化指标检测 采用全自动生化分析仪检测三酰甘油(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、血糖等生化指标。

1.6 基因分型

1.6.1 外周血 DNA 提取 用 AxyPrep 血基因组 DNA 小量制备试剂盒提取白细胞中的 DNA,提取的 DNA -80°C 保存。

1.6.2 引物设计与合成 扩增阻碍突变系统(ARMS)法引物序列参考有关文献^[5]设计(上海生工生物合成)。扩增片段序列见表 1。

表 1 CBS G919A 扩增片段序列

扩增位点	引物序列	扩增片段长度(bp)
上游引物(野生型)	5'-CTACGAGGTGAAGGGATCG-3'	655
上游引物(突变型)	5'-CTACGAGGTGAAGGGATCA-3'	
下游引物	5'-GCCTCCTCATCGTTGCTCTT-3'	

1.6.3 PCR 的扩增 扩增体系 25 μL , 上下游引物各 0.5 μL , 2 $\times$ PCR Mix 12.5 μL , 模板 DNA 3 μL , 双蒸水补足 25 μL 。应用日本 TaKaRa 公司 PCR 扩增仪,扩增条件,94 $^\circ\text{C}$ 预变性 4 min,94 $^\circ\text{C}$ 变性 1 min,56 $^\circ\text{C}$ 退火 1

^{*} 国家高技术研究发展计划(863 计划)课题(编号:2011AA02A111)

[△]通信作者。E-mail: ruidongsheng@shzu.edu.cn

min, 72℃ 延伸 30 s, 循环 35 次。72℃ 延伸 10 min。

1.6.4 电泳判断基因型 PCR 扩增产物 10 μL 加 10 × Buffer 2 μL, 点样 1.5% 琼脂糖凝胶中, 100 V, 电泳 30 min, 紫外灯下检测照相, 经自动凝胶成像仪成像, 检测分析基因型。

1.7 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计软件, 计数资料采用 χ^2 检验, 计量资料两组间比较采用 t 检验, 确定其符合 Hardy - Weinberg 平衡法, 检测样本有群体代表性。

2 结果

2.1 汉族、锡伯族 EH 组与 NT 组一般资料比较 汉族 EH 组 SBP、DBP、BMI、TG、TC、HDL - C 高于 NT 组 ($P < 0.05$); LDL - C、GLU、BUN、Scr、UA 两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。锡伯族 EH 组 BMI、SBP、DBP、TG、TC、HDL - C、LDL - C 高于 NT 组 ($P < 0.05$); GLU、BUN、Scr、UA 两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 见表 2~3。

表 2 汉族 EH 组与 NT 组临床资料比较 $\bar{x} \pm s$

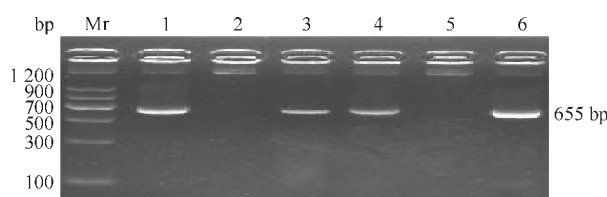
监测指标	EH 组 ($n=200$)	NT 组 ($n=200$)	t 值	P 值
SBP (mmHg)	148.53 ± 20.66	125.41 ± 21.07	11.080	0.000
DBP (mmHg)	93.46 ± 12.81	74.52 ± 12.38	15.036	0.000
BMI (kg/m ²)	28.41 ± 4.86	25.39 ± 4.57	6.402	0.000
TG (mmol/L)	1.77 ± 0.78	1.13 ± 0.69	8.691	0.000
TC (mmol/L)	4.96 ± 1.35	4.52 ± 1.10	3.573	0.000
HDL - C (mmol/L)	1.72 ± 0.46	1.37 ± 0.31	8.923	0.000
LDL - C (mmol/L)	1.26 ± 0.53	1.44 ± 0.69	-2.926	0.004
GLU (mmol/L)	4.48 ± 1.21	4.44 ± 1.26	0.324	0.746
BUN (mmol/L)	4.68 ± 1.57	4.59 ± 1.10	0.664	0.507
Scr (μmol/L)	71.49 ± 14.86	69.18 ± 17.09	1.443	0.150
UA (μmol/L)	239.83 ± 80.01	236.58 ± 77.89	0.412	0.681

2.2 CBS G919A 基因型鉴定结果 PCR 产物检测分析得到 3 种基因型: 野生型 (GG), 可见 870 bp 一个条

带; 杂合突变型 (GA), 可见 870 bp 两个条带; 纯合突变型 (AA), 可见 870 bp 一个条带。见图 1。

表 3 锡伯族 EH 组与 NT 组临床资料比较 $\bar{x} \pm s$

监测指标	EH 组 ($n=200$)	NT 组 ($n=200$)	t 值	P 值
SBP (mmHg)	152.41 ± 20.19	121.26 ± 20.09	15.467	0.000
DBP (mmHg)	91.43 ± 13.59	78.31 ± 12.46	10.064	0.000
BMI (kg/m ²)	28.31 ± 4.48	26.09 ± 4.03	5.210	0.000
TG (mmol/L)	1.92 ± 0.55	1.13 ± 0.73	12.220	0.000
TC (mmol/L)	4.82 ± 1.15	4.31 ± 1.02	4.692	0.000
HDL - C (mmol/L)	1.89 ± 0.46	1.41 ± 0.45	10.549	0.000
LDL - C (mmol/L)	2.35 ± 0.58	1.86 ± 0.42	9.677	0.000
GLU (mmol/L)	4.52 ± 1.25	4.49 ± 1.36	0.230	0.819
BUN (mmol/L)	4.71 ± 1.62	4.66 ± 1.59	0.312	0.756
Scr (μmol/L)	73.52 ± 16.74	71.25 ± 17.01	1.345	0.179
UA (μmol/L)	241.56 ± 73.81	239.46 ± 75.33	0.282	0.778



Mr: marker; 1、2: 野生型; 3、4: 杂合突变型; 5、6: 纯合突变型

图 1 CBS G919A 扩增图

2.3 Hardy - Weinberg 平衡检验 对 800 例新疆汉族和锡伯族人群进行 Hardy - Weinberg 平衡检验, 结果显示 4 组人群的基因型均符合平衡定律 ($P > 0.05$), 说明在遗传学上有较好的群体代表性。

2.4 基因型与等位基因频率分布 汉族 EH 组和 NT 组中基因型、基因频率分布差异无统计学意义。锡伯族 EH 组 GG 基因型低于锡伯族 NT 组, AA 基因型高于锡伯族 NT 组 ($P < 0.05$); 锡伯族 EH 组 G 等位基因频率低于锡伯族 NT 组, A 等位基因高于锡伯族 NT 组 ($P < 0.05$)。见表 4~5。

表 4 汉族 EH 组与 NT 组 CBS G919A 基因型及等位基因频率分布

项目	例数	基因型频率 例(%)			等位基因频率 频数(%)	
		GG	GA	AA	G	A
EH 组	200	108(54.0)	85(42.5)	7(3.5)	301(75.2)	99(24.8)
NT 组	200	112(56.0)	83(41.5)	5(2.5)	307(76.8)	93(23.2)
χ^2 值			10.316		5.847	
P 值			0.006		0.016	

表 5 锡伯族 EH 组与 NT 组 CBS G919A 基因型及等位基因频率分布

项目	例数	基因型频率 例(%)			等位基因频率 频数(%)	
		GG	GA	AA	G	A
EH 组	200	96(48.0)	79(39.5)	25(12.5)	271(67.8)	129(32.6)
NT 组	200	111(55.5)	83(41.5)	6(0.3)	305(76.2)	95(23.8)
χ^2 值			12.831		7.168	
P 值			0.002		0.007	

3 讨论

EH 是人类最常见的心血管疾病之一^[8],是威胁人类健康的发病率较高的疾病^[9]。高血压是多基因和多环境因素疾病,单基因的作用不足以成为致病机制,具有广泛的性别、年龄、种族、地区的差异,具有较大的遗传异质性^[10]。CBS 基因 G919A 位点位于第 8 外显子,当第 307 位氨基酸由甘氨酸代替了丝氨酸,导致 CBS 活性下降,但并不影响 CBS 与 5'-磷酸吡哆醛的结合。CBS 基因多态性的研究多在集心脑血管疾病和冠心病领域^[9-10]。王红等^[11]发现 CBS G919A 多态性在新疆哈萨克族人群高血压无相关性。朱文丽等^[12]研究显示 CBS 基因 G919A 位点突变等位基因(A)与先天性心脏病具有相关性。南光贤等^[13]报道 CBS G919A 多态性与吉林汉族脑梗死无相关性;赵如冰等^[14]发现 CBS G919A 多态性与生育神经管畸形儿无相关性。

新疆锡伯族群体极少与外族通婚,从地理位置和血缘关系上为相对隔离人群,影响高血压的环境因素较为一致,有较大的遗传同源性,是进行高血压分子流行病学研究的理想人群。研究结果显示,汉族 EH 组、NT 组 GG、GA、GG 基因型和 G、A 等位基因频率分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。锡伯族 EH 组 GG 基因型低于锡伯族 NT 组,AA 基因型高于锡伯族 NT 组($P < 0.05$);G 等位基因频率低于 NT 组,A 等位基因高于 NT 组($P < 0.05$)。研究结果表明 CBS 基因 G919A 位点的等位基因频率分布与新疆锡伯族人群 EH 的发生具有相关性,而该位点与新疆汉族 EH 的发病可能无相关性。

综上所述,CBS 基因 G919A 多态性与新疆汉族 EH 的发生无相关性,与锡伯族 EH 的发生可能具有相关性。本次研究结果的不同,可能是 EH 的发生受基因及环境因素等多种因素共同作用所致。锡伯族人群在居住环境、饮食及生活习惯等方面与汉族人群差异较大,CBS 基因 G919A 多态性在不同种群及个体表达不同。为进一步了解两民族基因多态性与 EH 的关系,我们将进行多地区、多民族的深入研究。

参考文献

- [1] 柯水旺,曾海生,邓朝晖,不同年龄组原发性高血压患者症状及血流变学分析 [J]. 现代医院,2011,13(1): 41-43.
- [2] 吴晓春,季乃军,吴少琴,等. 原发性高血压患者颈动脉内膜中层厚度与血清 C 型钠尿肽的关系 [J]. 天津医药,2015,43(6): 620-623.
- [3] 张岩,霍勇. 伴同型半胱氨酸升高的高血压——“H 型”高血压 [J]. 心血管病学进展,2011,32(1): 3-6.
- [4] Luccock M, Yates Z, Martin C, et al. Hydrogen sulphide - related thiol metabolism and nutrigenetics in relation to hypertension in an elderly population [J]. Genes Nutr, 2013, 8(2): 221-229.
- [5] Tsai MY, Hanson NQ, Schwichtenberg K, et al. Amplification Refractory mutation system to identify mutations in cystathionine - beta - synthase deficiency [J]. Clin Chem, 1995, 41(12): 1775-1777.
- [6] 杨芳,蔡伟娟,胡娜,等. Hcy 及其代谢酶 MTHFR C677T 基因多态性与新疆汉族原发性高血压的相关性研究 [J]. 西安交通大学学报,2014,35(1): 60-63.
- [7] Fava C, Danese E, Monlagnana M, et al. Serine/threonine kinase 39 is a candidate gene for primary hypertension especially in women: results from two cohort studies in Sweden [J]. J Hypertens, 2011, 29(3): 484-491.
- [8] 袁艺,白雪. 原发性高血压血管紧张素原基因研究 [J]. 河南中医,2014,34(3): 422-424.
- [9] Mendes CC, Raimundo AM, Oliveria LD, et al. DHFR 19 - bp deletion and SHMT C1420T polymorphisms and metabolite concentrations of the folate pathway in individuals with Down syndrome [J]. Genet Test Med Mol Biomarkers, 2013, 17(4): 274-277.
- [10] Sarov M, Not A, De Baulny HO, et al. A case of homocystinuria due to CBS gene mutations revealed by cerebral venous thrombosis [J]. J Neurol Sci, 2014, 336(1): 257-259.
- [11] 王红,时庆平,张颖,等. 胱硫醚 β 合成酶基因多态性及血浆同型半胱氨酸与新疆哈萨克族原发性高血压的关系 [J]. 新疆医科大学学报,2014,37(12): 1595-1599.
- [12] 朱文丽,宋晓明,李孟忆. CBS 基因变异与血清同型半胱氨酸水平及先天性心脏病的关系研究 [J]. 卫生研究,2008,35(4): 463-467.
- [13] 南光贤,王利平. MTHFR C677T 和 CBS T833C G919A 基因突变与青年缺血性脑卒中的关系 [J]. 肿瘤学杂志,2007,11(11): 1538-1540.
- [14] 赵如冰,朱慧萍,刀京晶. 胱硫醚 β 合成酶基因多态性与神经管畸形的关系研究 [J]. 卫生研究,2000,29(1): 50-51.

(收稿日期:2015-04-23 编辑:林培德)